

Charakteryzowanie form specjalnych *Fusarium oxysporum*

Maria Rataj-Guranowska, Katarzyna Pieczul
Bank Patogenów Roślin, Instytut Ochrony Roślin
ul. Mieczurina 20, 60-318 Poznań

Słowa kluczowe: *Fusarium oxysporum* formae speciales, status, patogeniczność

Wstęp

Grzyby rodzaju *Fusarium* występują powszechnie we wszystkich strefach klimatycznych, wykazując ogromną zmienność związaną z ich adaptacją do warunków środowiskowych. Wynika stąd ogromna różnorodność form tych grzybów i trudności w ich identyfikacji, nie tylko gatunków, ale także podjednostek w obrębie gatunków: form specjalnych, ras i grup zgodności wegetatywnej.

Od 1935 roku podejmowano ponad dziesięciokrotnie (36) próby usystematyzowania i stworzenia opracowań taksonomicznych tych grzybów, co wynikało m.in. ze świadomości znacznych strat ekonomicznych powodowanych przez liczne patogeny — przedstawicieli rodzaju. Stworzone systemy i klucze są bardzo różnorodne i dalekie od rozstrzygnięcia istniejących kontrowersji, nie satysfakcjonując w pełni mikologów, fitopatologów, genetyków i hodowców roślin odpornych na choroby fuzaryjne.

Biorąc pod uwagę, że problemy i trudności identyfikowania gatunków rodzaju są powszechnie znane, w niniejszym opracowaniu omówione zostaną najważniejsze metody charakteryzowania form specjalnych — podjednostek systematycznych, wyróżnionych w obrębie *Fusarium oxysporum*, oraz niektóre rezultaty prac badawczych. Szczególny nacisk położony zostanie na metody i prace, które — jak się wydaje — mają wpływ na zachodzące zmiany poglądów dotyczących znaczenia form specjalnych oraz ich wzajemnych relacji. Jednak przed omówieniem nowszej tematyki badawczej niezbędne wydaje się przedstawienie w sposób chronologiczny wcześniejszych badań nad tymi jednostkami.

Wprowadzenie formy specjalnej do taksonomii *Fusarium oxysporum*

W pierwszym systemie Wollenwebera i Reinkinga [49] *Fusarium oxysporum* SCHLECHTEND. zdefiniowano jako gatunek na podstawie morfologii aseksualnych zarodników i umieszczono w sekcji Elegans wraz z 9 innymi gatunkami. Już wkrótce dwaj inni taksonomowie, Snyder i Hansen [46], stwierdzili, po wieloletnich badaniach kultur jednozarodnikowych, że różnice morfologiczne między wyróżnionymi jednostkami sekcji są nieznaczne, a same cechy morfologiczne są bardzo zmienne [36]. Biorąc to pod uwagę, zredukowali sekcję Elegans do jednego gatunku: *F. oxysporum* SCHLECHTEND. EMËND. SNYD. et HANS.. Autorzy ci ponadto zlikwidowali podział na sekcje i w całym rodzaju *Fusarium* wyróżnili jedynie 9 gatunków. Pomniejszając znaczenie cech morfologicznych, wyróżnili w obrębie *F. oxysporum* formy specjalne i rasy na podstawie kryteriów fizjologicznych. Ponadto wyodrębnili klony, jednostkę w obrębie form (i ras), która została wyróżniona na podstawie cech morfologicznych.

W fitopatologii pojęcie formy specjalnej (forma specialis, f. sp.) istnieje od czasu prac nad formami *Puccinia graminis* PERS. Pojęcie to, według obecnej definicji, oznacza biotyp (lub grupę biotypów) gatunku patogena, na ogół niewyróżnialny morfologicznie, infekujący wybrany gatunek (czasem rodzaj) wrażliwej rośliny [45]. Równocześnie cecha patogeniczności była jedyną, która pozwalała na odróżnienie różnych form specjalnych *F. oxysporum* od takich samych morfologicznie niepatogenicznych izolatów gatunku powszechnie występującego w glebie.

W obrębie form wyróżniane są rasy *F. oxysporum*. Rasa to reprezentant grupy form (część biotypu) patogena podobnych morfologicznie, a różniących się wirulencją w stosunku do różnych odmian (rodów hodowlanych, genotypów) określonego gatunku rośliny [45].

Są także przykłady, że rasy *F. oxysporum* są wyznaczane na podstawie selektywnego porażania odrębnych gatunków roślin. Tę niekonsekwencję zasady różnicowania ras dobrze ilustrują zmiany w definiowaniu form specjalnych porażających przedstawicieli rodziny *Cruciferae*. Początkowo Armstrong i Armstrong [3] uznali izolaty zakażające tę rodzinę za członków f. sp. *conglutinans*. Izolaty porażające kapustę zaliczyli do rasy 1, porażające rzodkiew do rasy 2, a porażające *Matthiola* sp. do ras 3 i 4. W tym przykładzie selektywnymi dla ras były gatunki roślin. Z kolei Bosland i Williams [7] wyróżnili 3 formy specjalne: f. sp. *raphani* — dla izolatów powodujących chorobę rzodkiewki, f. sp. *conglutinans* — kapusty, a f. sp. *matthioli* dla *Matthiola*. Rasy zdefiniowano tu na podstawie specyficzności izolatów w stosunku do genotypów w obrębie gatunków roślin. Istnieje jeszcze inna niekonsekwencja w definiowaniu ras *F. oxysporum*. Kolejno identyfikowanym rasom przypisuje się na ogół chronologicznie kolejny numer, co może prowadzić do nieporozumień. Czasami bowiem nu-

mer rasy odpowiada numerowi genu odporności roślin, odpowiedzialnemu za selektywność rasy. Jednak taka pożądana odpowiedniość zdarza się sporadycznie.

Różnicowanie form specjalnych — kryteria fitopatologiczne

Status form specjalnych od początku budził wątpliwości taksonomów, dzieląc ich na przeciwników i zwolenników włączenia form do Kodu Nomenklaturowego. W tym samym czasie, kiedy Snyder i Hansen pracowali nad systemem taksonomicznym, Armstrong i Armstrong pracowali nad praktycznym zastosowaniem tego systemu. Opublikowali oni w latach 1940–1981 kilkanaście publikacji z wynikami tych prac o ogromnym znaczeniu dla fitopatologii [2, 3, 4, 5].

Badacze opisali główne niespecyficzne, ale charakterystyczne objawy zgorzeli naczyniowej (wiednięcia fuzaryjnego). Ogólnie wiadomo, że formy specjalne mają zdolność do pokonania endodermy i wnikania do wiązek naczyniowych roślin dwuliściennych. Wywołują zmiany koloru naczyń, które na ogół stają się brunatne. Jednak, według Armstrongów, przebarwienia wiązek nie są najbardziej typowym kryterium, ponieważ występują często przy równoczesnym braku jakichkolwiek symptomów zewnętrznych [4]. Innymi charakterystycznymi objawami wiednięcia fuzaryjnego (wilt-disease), według autorów, przydatnymi zarówno przy charakterystyce form, jak i ras w obrębie form są:

- zwisanie liści (epinastia),
- żółknięcie i nekrozy sektorów liści,
- opadanie liści,
- występowanie objawów po jednej stronie rośliny,
- zahamowane wzrostu roślin.

Nie wszystkie formy specjalne wywołują typowe objawy zewnętrzne, np. ff. *asparagi*, *dianthi*, *glycines*, *tulipae* [5].

W miarę postępu prac Armstrong i Armstrong stało się widoczne, że potrzebne są uzupełnienia w definicji formy specjalnej. Wystarczył fakt, że liczba form, które porażały wyłącznie jeden gatunek rośliny, była zaskakująco mała. Były to następujące formy: *betae*, *cyclaminis*, *fragariae*, *glycines*, *lycopersici*, *medicaginis*, *passiflorae*, *pernicosum*, *ricini*, *sezami* i *voadzeae* [3]. W wypadku pozostałych form, a właściwie ich znacznej większości, koncepcja ich ograniczonej patogeniczności lub wysokiej specyficzności nie sprawdzała się. Wyniki krzyżowych testów infekcyjnych udowodniły, że dla większości form zastosowanie mogła mieć raczej koncepcja ograniczonej specyficzności, m.in. *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* porażało rośliny aż z trzech rodzin: *Malvaceae*, *Solanaceae* i *Papilionaceae*. Podobnie szeroki zakres roślin porażały również formy: *tracheiphilum*, *apii*, *batatas*.

Tym samym grupa form specjalnych okazuje się zróżnicowana. Poza tym, na co wskazują wyniki krzyżowych testów infekcyjnych, większość form musi zawierać

wspólne geny wirulencji, co umożliwia im porażanie w dużej mierze pokrywającego się zakresu roślin-gospodarzy.

W tej sytuacji wprowadzono pojęcie pierwszo- i drugorzędowego gospodarza. Zasada było, że pierwszorzędowy gospodarz porażany był w stopniu wyższym niż roślina (rośliny) gospodarz (gospodarze) drugorzędowi [2].

Nie wszystkie formy z listy badaczy zostały scharakteryzowane w dostatecznym stopniu. Nieczęsto były badane formy: *aechmeae*, *cumini*, *lagenariae*, *vanillae*, *zingiberi*. Tylko fragmentarycznie scharakteryzowane są formy: *elaegni*, *gerberae*, *nelumbicolum*, *opuntiarum* [2]. Biorąc to pod uwagę, badacze podali zasady, jakie powinny być spełnione przy wyróżnieniu nowej formy specjalnej [2, 4]. Podstawą identyfikacji nowej formy specjalnej powinien być test infekcyjny. Przy różnicowaniu nowej formy konieczne jest, aby:

- nowa, dotychczas nieznaną rośliną-gospodarzem była inokulowana wirulentnymi izolatami wszystkich istniejących dotychczas form i ras *F. oxysporum*,
- wszystkie dotychczas znane gatunki roślin-gospodarzy były poddane próbie infekcji nową formą.

Ponadto wpływ na wyniki testu infekcyjnego mają wielkość inokulum patogena, a także stadium rozwojowe inokulowanych roślin. Rośliny powinny być w innej fazie rozwojowej niż siewki. Często test wykonywany jest w nieodpowiedniej temperaturze [4]. Wpływ różnorodnych czynników na wyniki różnicowania form i ras był często analizowany [2, 4, 11, 47].

W tej sytuacji niektóre formy specjalne ulegają reidentyfikacji, a liczba form specjalnych i również ras ulegają zmianie. W wyniku uzupełniających testów infekcyjnych formy specjalne *mathioli* i *raphani* zostały uznane za rasy f. sp. *conglutinans* [4]. Kilkakrotnie uległa zmianie liczba ras f. sp. *pisi* [5, 18].

Dla celów porównawczych Armstrong i Armstrong postulowali utworzenie banku form specjalnych, przechowywanych w formie zliofilizowanej lub w ciekłym azocie, i równoległej kolekcji genotypów, a właściwie nasion odmian różnicujących roślin-gospodarzy [4]. Jednak do dzisiaj, po ponad 25 latach, takiego banku nie utworzono. Ostatecznie niezbędne do uzyskania powtarzalności wyników testów infekcyjnych wydawało się opracowanie — tabularyzacja warunków takich testów [2]. Ten ostatni postulat jest szczególnie istotny dla wszystkich fitopatologów — badaczy *F. oxysporum*. Bez utrzymania jednakowych warunków testu infekcyjnego wyniki porażenia przez te same izolaty form mogą być niepowtarzalne. Ponadto jest nieuniknione, że powstają nowe rasy i formy i że wirulencja już istniejących form i ras ulega z czasem zmianie. Wpływ na tę zmianę mają warunki przechowywania izolatów. Nie ma bowiem metody przechowywania grzybów obojętnej dla ich morfologii, żywotności i patogeniczności. Zmiany tej ostatniej — podstawowej cechy okazały się istotną przeszkodą stworzenia odpowiednika „type-isolate” oraz objęcia form specjalnych i ras Kodem Nomenklatury. Ostatecznie, zgodnie z decyzją podjętą na

X Międzynarodowym Kongresie Botanicznym, formy specjalne i rasy patogenów nie zostały włączone do kodu.

Bieżące prace nad określaniem zakresu roślin-gospodarzy odbywają się często przy wykorzystaniu zupełnie nowych roślin różnicujących, w bardzo odmiennych warunkach testów od tego, który opracowali na podstawie swoich doświadczeń Armstrong i Armstrong [2, 4].

W tej sytuacji nie tylko odkrywane są nowe formy specjalne i rasy *F. oxysporum*. Niektóre dawniej wyróżnione formy zostały skreślone z pierwotnej listy form Armstrongów. Dotyczyło to f. sp. *pini*, wywołującej jedynie wypadanie siewek sosny (damping-off), choroby, przy której nie zachodziła kolonizacja roślin ani nie występowały przebarwienia wiązek naczyniowych porażonych roślin dorosłych [31]. Wyłączono także z listy niedostatecznie zbadane formy: f. sp. *nicotianae* i f. sp. *radicis-lupini* [5]. O pierwszej z nich brak danych literaturowych, a druga wywołuje raczej zgorzel korzeni, nie wywołując symptomów zgorzeli naczyniowej. Równocześnie zachodzą zmiany w liczbie form oraz ras, których sumaryczna ilość nadal ulega powiększeniu. Do ostatecznie opublikowanej w 1981 przez Armstrongów listy 122 form specjalnych i ras [5] przybyły nowe formy specjalne: porażające sałatę [22] oraz krasnodrzew pospolity [44]. Bardzo niewspółmierny do wyników powiększania się listy form i ras jest efekt badań nad identyfikacją genów odporności w roślinach-gospodarzach. Do 1981 roku zidentyfikowano geny odporności na wędnięcie fuzaryjne jedynie w 15 gatunkach roślin różnicujących [5].

Charakteryzowanie form specjalnych metodami uzupełniającymi

Okres analiz białek (serologiczno-enzymatyczny)

Stosowane dotychczas testy infekcyjne są zróżnicowane, a wyniki ich nie zawsze rozstrzygają o przynależności badanych szczepów do formy specjalnej. Są to prace czasochłonne. Dlatego od lat sześćdziesiątych do czasów obecnych do charakteryzowania form specjalnych stosowane są metody dodatkowe, traktowane jako uzupełniające i pomocnicze. Stosowane metody oparte są na osiągnięciach fizjologii, serologii, biochemii, a dominujący typ metod odzwierciedla na ogół chronologiczny rozwój dosyć różnorodnych technik z wielu dziedzin. Można m. in. wyróżnić okres serologiczno-enzymatyczny, w którym analizy polimorfizmu białek strukturalnych i izoenzymów, a także aktywności enzymów dominowały w badaniach form specjalnych i były niejednokrotnie przedmiotem prac przeglądowych do początku lat osiemdziesiątych [6, 33, 40]. Metody analizy izoenzymów są sporadycznie stosowane nadal.

Trzeba podkreślić, że dodatkowe metody analityczne dotyczą głównie charakteryzowania pojedynczych form specjalnych, ujawniając relacje pokrewieństwa w populacjach ich przedstawicieli. Badania nazywane „dodatkowymi” zyskały wielu wykonawców i zdają się istnieć niezależnie od testów infekcyjnych, których nie pozwalają ominąć.

Okres badań genetycznych

Obecny okres mógłby nazywać się genetycznym, ponieważ obecnie przy charakteryzowaniu form specjalnych dominują: genetyczny test zgodności wegetatywnej oraz analizy genomu wykonywane technikami molekularnymi [21, 26, 27].

Poczynając od początku lat osiemdziesiątych, najczęściej używaną metodą charakteryzowania form specjalnych *F. oxysporum* stał się test zgodności wegetatywnej [28, 38, 39]. Metoda służy zresztą do charakterystyki zależności genetycznych w populacjach także innych patogenów.

W teście tym na podstawie zgodności wegetatywnej dwóch szczepów grzyba, tj. zdolności do tworzenia między nimi heterokarionu, można wyłonić podgrupy w populacji tego grzyba. Tendencja do kojarzenia się strzępek dwóch szczepów wzrasta wraz z ich genetycznym podobieństwem. Wyłonione grupy nazywa się grupami zgodności wegetatywnej (vegetative compatibility groups, grupy VC). Są one na tyle odrębne genetycznie, że nie kojarzą się ze sobą. Natomiast szczepy w obrębie tej samej grupy są zgodne wegetatywnie i tworzą heterokariony. U patogenów wędnięcia, jak *Verticillium dahliae* lub *Fusarium oxysporum*, wobec zaniku ich stadium doskonałego, jedynie kojarzenie paraseksualne umożliwia rekombinację genetyczną.

W 1985 roku Puhalla rozdzielił 21 szczepów *F. oxysporum* do 16 grup VC, stosując w teście mutanty nit (niewykorzystujące azotanów) [39]. W pionierskiej pracy przedstawił dowód, że grupy VC są skorelowane z odrębnymi formami specjalnymi. Postawił także hipotezę, że formy specjalne są izolowane genetycznie. W dyskusji, na podstawie krótkiego i przekonującego wywodu teoretycznego, stwierdzono, że grupy VC są prawdopodobnie skorelowane również z rasami. Już wkrótce w sporej liczbie prac potwierdzono rzeczywiście fakt przynależności różnych form specjalnych do odrębnych grup VC [15, 23, 24].

W ciągu 15 lat metoda została zastosowana przez wielu fitopatologów na całym świecie. Od 1985 roku za pomocą metody scharakteryzowano kilkadziesiąt form specjalnych [23, 28]. Zazwyczaj wyłanianiu grup zgodności wegetatywnej w obrębie form i ras towarzyszy ich charakteryzowanie metodami molekularnymi, przy dominującym zastosowaniu technik RFLP i PCR w różnych modyfikacjach.

Wśród fitopatologów stosujących metodę stopniowo utwierdzało się przekonanie, że formy specjalne są izolowane genetycznie. Ten sposób myślenia zdawał się kreować ponad 80 grup — form specjalnych niekojarzących się ze sobą, a więc o atrybutach gatunku w obrębie *Fusarium oxysporum*.

Wydawać się mogło, że w końcu odkryto sposób na stosunkowo łatwe różnicowanie form oraz ras bez konieczności odwoływania się do testu patogeniczności [1, 38, 39]. Grupy VC wydają się być odpowiednikiem linii klonalnych [29]. Przynależność do tej samej grupy wskazuje na podobieństwo izolatów [29]. Izolaty te miewają podobny wygląd [39] oraz prawdopodobnie mają wspólnych przodków, na co wskazują wykonywane także analizy RFLP [21]. Określane wzorce RFLP korelują raczej z

grupami VC niż z rasami [32, 50]. Stwierdzone początkowo korelacje między rasami i grupami zgodności wegetatywnej [1, 8, 38] nie były częste. W większości zbadanych form specjalnych przedstawiciele jednej rasy są stwierdzani w różnych grupach zgodności, ponadto w jednej grupie mogą być reprezentanci różnych ras. Dotyczy to m. in. następujących zbadanych dotychczas form: f. sp. *cubense* [43], f. sp. *lycopersici* [13], f. sp. *lupini* [41], f. sp. *melonis* [22]. Wydaje się więc, że te same rasy powstały niezależnie w różnych grupach VC [14].

Ostatnio podsumowano wyniki prac z zastosowaniem testu VC nad 38 formami specjalnymi [23, 28]. Zbadane formy zgrupowano alfabetycznie oraz według trzycyfrowego kodu, zgodnie z systemem numerycznym zaproponowanym jeszcze przez Puhallę [38]. Dodatkowa czwarta cyfra oznacza grupę zgodności wegetatywnej. W przyjętym systemie nie uwzględniono jednoizolatowych grup VC, które w pewnych formach, jak w słabo wyspecjalizowanej f. sp. *asparagi*, są bardzo liczne [15]. Ponadto nie włączono do systemu numeracji grup VC zidentyfikowanych w populacjach niepatogenicznych izolatów *F. oxysporum*. Zaproponowany system numeryczny ma na celu standaryzację dalszej pracy nad następnymi formami specjalnymi i ułatwienie współpracy międzynarodowej. Nad prawidłowością tej pracy czuwać będzie wybieralny koordynator. Pierwszą koordynatorką była Talma Katan [23]. Proponowany system, po przyszłych korektach, stanowić może zaczątek nowego systemu taksonomicznego *F. oxysporum*, w którym jednostką główną będzie raczej wyróżniona biologicznie, izolowana genetycznie grupa zgodności wegetatywnej, a nie forma specjalna. Należy przy tym podkreślić, że dotychczas problem znaczenia kojarzenia się paraseksualnego patogenów w naturze nie jest wyjaśniony dostatecznie.

Z prac Katan i in. [23, 28] wynika, że liczba grup VC w różnych formach specjalnych waha się od 1 do 24, przy czym w 20 formach specjalnych zidentyfikowano od 1 do 6 grup VC. W nowszych pracach liczba zidentyfikowanych grup jest na ogół mniejsza niż w pracach starszych. Według numeracji historycznej, zawierającej oczywiście luki, istnieją grupy VC obdarzone kodem od 001 do 100 [39].

System numeryczny ma ułatwić koordynację przewidywanych prac równocześnie nad formami specjalnymi i grupami zgodności wegetatywnej. Nie sposób nie zauważyć, że punkt ciężkości zainteresowań fitopatologów ulega pewnemu przesunięciu. Jednostką budzącą aktualnie większe zainteresowanie staje się grupa zgodności wegetatywnej. Jest charakterystyczne, że dokonanie transformacji jednej rasy w drugą u f. sp. *niveum* zmieniło jej własności patogeniczne, ale pozostała ona w tej samej grupie VC, co poprzednio [26]. Coraz częściej grupy VC są również korelowane z analizami mitochondrialnego DNA [27].

Co więcej, dodatkowe metody biochemiczne ujawniły, że pewne grupy VC wyróżnione w różnych formach specjalnych są sobie genetycznie bliższe niż grupy VC w obrębie tej samej formy specjalnej [13]. Tak ściśle spokrewnione formy porażają blisko spokrewnione rośliny, np. należące do jednej rodziny *Cucurbitaceae*. Udało się nawet znaleźć izolat f. sp. *cucumerinum* porażający wszystkie główne rośliny-gospo-

darzy tej rodziny [17]. Analiza molekularna grup VC wykazała, że istnieją bliskie genetycznie formy o podobnym zakresie gospodarzy. Ponadto są już pierwsze doniesienia o interkrzyżowalności różnych form. Wyniki takie uzyskano nie tylko między sztucznie izolowanymi protoplastami różnych form specjalnych [34], między nierosnącymi samodzielnie, rzadkimi w naturze mutantami auksotroficznymi [10, 16], ponadto, co wydaje się najistotniejsze, także między mutantami nit [43, 48] samodzielnie rosnącymi, powszechnymi w naturze [9, 39] i stosowanymi w większości testów zgodności wegetatywnej. Te ostatnie wyniki uzyskano po znacznym zmodyfikowaniu [43] powszechnie stosowanego testu zgodności wegetatywnej [9]. Testery VC w tej modyfikacji wybierano nie na podstawie fenotypów mutantów. Kierowano się kryterium największej częstości kojarzenia się pary mutantów w grupie mutantów pochodzących z każdego izolatu *F. oxysporum* [43]. Takie podejście daje znacznie efektywniej kojarzące się testery i ostatecznie redukuje liczbę identyfikowanych grup VC.

Wszystkie te dane uzyskane metodami „uzupełniającymi” mówią o wewnętrznym zróżnicowaniu form oraz o bardzo niewielkich różnicach między niektórymi formami. Jest prawdopodobne, że nareszcie otrzymujemy wytłumaczenie wspólnego lub bardzo podobnego zakresu gospodarzy przynajmniej niektórych form. Wynika to być może z faktu posiadania podobnych lub wręcz wspólnych (może tych samych) genów patogeniczności — kombinacji możliwej w wyniku rozmnażania wegetatywnego, możliwego, jak się okazało, między różnymi formami specjalnymi.

Perspektywa dalszych prac ukazuje więc możliwości dalszych korekt podziału na formy specjalne, np. połączenia pewnych blisko spokrewnionych form porażających rośliny z tej samej lub z bliskich rodzin. O takich decyzjach nie zadecyduje już wyłącznie test patogeniczności, lecz metody dotąd mające moc uzupełniającą. Jest w dużej mierze prawdopodobne, że rozstrzygających argumentów dostarczą właśnie fakty kojarzenia się paraseksualnego form o podobnym zakresie gospodarzy oraz ich molekularna charakterystyka. Ta charakterystyka: analizy kariotypu, polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych, wyniki analiz RAPD i AFLP pozwalają na szybką i dokładną analizę dużej ilości izolatów i są wykonywane szybciej niż test zgodności wegetatywnej [29, 30, 32, 35, 50]. Sztuczny system numeryczny form specjalnych, zapoczątkowany przez Puhallę [38] i uporządkowany przez Katan i in. [23, 28], może w przyszłości z alfabetycznego przekształcić się choćby częściowo w naturalny system taksonomiczny.

Podsumowanie

Dotychczasowe rezultaty zastosowania testów patogeniczności, wyniki analiz genomu, najczęściej analiz RFLP i RAPD, nie dały oczekiwanych rozstrzygnięć dotyczących systematyki form specjalnych *Fusarium oxysporum* SCHLECHTEND. Wyniki te są charakterystykami genetycznymi istniejących populacji poszczególnych form

specjalnych. W pracach tych brakuje określenia ewentualnych wzajemnych relacji form specjalnych między sobą. Wydaje się, że dalsze charakteryzowanie grup zgodności wegetatywnej pozwoli w pewnych wypadkach na uściślenie podziału na formy specjalne oraz wskaże na miejsca, w których grupy te przechodzą jedna w drugą w sposób ciągły, oraz na miejsca, gdzie są one od siebie izolowane genetycznie.

Literatura

- [1] Aloï C., Baayen R.P. 1993. Examination of the relationship between vegetative compatibility groups and races in *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. *Plant Pathology* 42: 839–850.
- [2] Armstrong G.M., Armstrong J.K. 1968. Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing a tracheomycosis in the syndrome of disease. *Phytopathology* 58: 1242–1246.
- [3] Armstrong G.M., Armstrong J.K. 1974. Races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*. Causal agents of wilt of pea. *Phytopathology* 64: 849–857.
- [4] Armstrong G.M., Armstrong J.K. 1975. Reflections on the wilt fusaria. *Ann. Rev. Phytopath.* 13: 95–104.
- [5] Armstrong G.M., Armstrong J.K. 1981. Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases. W: „*Fusarium: Disease, Biology and Taxonomy*” Nelson P.E., Toussoun T.A., Cook R.A. (red.) The Pennsylvania State Univ. Press, Univ. Park.: 391–399.
- [6] Bonde M.R., Micales J.A., Peterson G.L. 1993. The use of isozyme analysis for identification of plant-pathogenic fungi. *Pl. Disease* 77: 961–968.
- [7] Bosland P.W., Williams P.H. 1987. An evaluation of *Fusarium oxysporum* from crucifers based on pathogenicity, isozyme polymorphism, vegetative compatibility, and geographic origin. *Can. J. Bot.* 65: 2067–2073.
- [8] Correll J.C., Puhalla J.E., Schneider R.W. 1986. Identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *apii* on the basis of colony size, virulence, and vegetative compatibility. *Phytopathology* 76: 396–400.
- [9] Correll J.C., Klittich C.J.R., Leslie J.F. 1987. Nitrate nonutilizing mutants of *Fusarium oxysporum* and their use in vegetative compatibility tests. *Phytopathology* 77: 1640–1646.
- [10] Cortes B.R., Blanca R., Kuhn D.N., Rejane R. 1998. Comparison of heterokaryon formation by hyphal anastomosis and protoplast fusion in *Fusarium*. Abstr. Seventh. Int. Congr. Plant Pathology (Edinburgh, Scotland) No 1.8.15.
- [11] Day P.R. 1973. Genetic variability of crops. *Ann. Rev. Phytopathol.* 11: 293–312.
- [12] Elias K.S., Schneider R.W. 1991. Vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Phytopathology* 81: 159–162.
- [13] Elias K.S., Schneider R.W. 1992. Genetic diversity within and among races and vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* as determined by isozyme analysis. *Phytopathology* 82: 1421–1427.
- [14] Elias K.S., Zamir D., Lichtman-Pleban T., Katan T. 1993. Population structure of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*: restriction fragment length polymorphisms provide ge-

- netic evidence that vegetative compatibility group is an indicator of evolutionary origin. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 6: 565–572.
- [15] Elmer W.H., Stephens C.T. 1989. Classification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *asparagi* into vegetatively compatible groups. *Phytopathol.* 79: 88–93.
- [16] Garber E.D., Wyttenbach E.G., Dhillon T.S. 1961. Genetics of phytopathogenic fungi. V. Heterocaryons involving formae of *Fusarium oxysporum*. *Amer. J. Bot.* 48: 325–329.
- [17] Gerlagh M., Blok W.J. 1988. *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucurbitacearum* n. f. embracing all formae speciales of *Fusarium oxysporum* attacking Cucurbitaceous crops. *Neth. J. Pl. Path.* 94: 17–31.
- [18] Haglund W.A., Kraft J.M., 1970. *Fusarium oxysporum* f. *pisi*, race 5. *Phytopathology* 60: 1861–1862.
- [19] Hansford C.G. 1926. The Fusaria of Jamaica. *Kew Bull.* 7: 257–288.
- [20] Hubbard J.C., Gerik J.S. 1993. A new disease of lettuce incited by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucum*. *Pl. Disease* 77: 750–754.
- [21] Jacobson D.J., Gordon T.R. 1990. Variability of mitochondrial DNA as an indicator of relationship between populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. *Mycol. Res.* 94: 734–744.
- [22] Jacobson D.J., Gordon T.R. 1991. *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*: a case study of diversity within a forma specialis. *Phytopathology* 81:1064–1067.
- [23] Katan T. 1999. Current status of vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. *Phytoparasitica* 27(1): 51–64.
- [24] Katan T., Hadar E., Katan J. 1989. Vegetative compatibility of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* from carnation in Israel. *Pl. Pathol.* 38: 376–381.
- [25] Katan T., Zamir D., Sarfatti M., Katan J. 1991. Vegetative compatibility groups and subgroups in *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Phytopathology* 81: 255–262.
- [26] Kim D.H., Lovic B.R., Martyn R.D., Magill C.W. 1995. Transformation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* race 2 with race 0 DNA alters pathogenicity but not vegetative compatibility. (Abstr.) *Phytopathology* 82: 498.
- [27] Kistler H.C., Bosland P.W., Benny U., Leong S., Williams P.H. 1987. Relatedness of strains of *Fusarium oxysporum* from crucifers measured by examination of mitochondrial and ribosomal DNA. *Phytopathol.* 77: 1289–1293.
- [28] Kistler H.C., Alabouvette C., Baayen R. P., Bentley S., Brayford D., Coddington A., Correl J., Daboussi M. J., Elias K., Fernandez D., Gordon T.T., Katan T., Kim H.G., Leslie J.F., Martyn R.D., Migheli Q., Moore N.Y., O'Donnell K., Ploetz R.C., Rutherford M.A., Summerrell B., Walwijk C., Woo S. 1998. Systematic numbering of vegetative compatibility groups in the plant pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology* 88: 30–32.
- [29] Koenig R.L., Ploetz R.C., Kistler H.C. 1997. *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* consists of a small number of divergent and globally distributed clonal lineages. *Phytopathology* 87: 915–923.
- [30] Manicom B.Q., Baayen R.P. 1993. Restriction fragment length polymorphism in *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* and other fusaria from *Dianthus* species. *Plant Pathology* 42: 851–857.
- [31] Matuo T., Chiba O. 1966. Species and formae speciales of fusaria causing damping-off and root-rot of coniferous seedlings in Japan. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan* 32: 14–22.

- [32] Mes J.J., Doorn Van J., Roebroek E.J.A., Egmond Van E., Aatrijk Van J., Boonekamp P.M. 1994. Restriction fragment length polymorphisms, Races and vegetative compatibility groups within a worldwide collection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli*. *Plant Pathology* 43: 362–370.
- [33] Micales J.A., Bonde M.R., Peterson G.L. 1998. Isozyme analysis in fungal taxonomy and molecular genetics. W: Handbook of Applied Mycology. Tom 4 Fungal Biotechnology. Aurora D.K., Elander P.R., Mukerji K.G., Dekker (red.) N. York: 57–79.
- [34] Molnar A., Sulyok L., Hornok L. 1990. Parasexual recombination between vegetatively incompatible strains of *Fusarium oxysporum*. *Mycol. Res.* 94: 393–398.
- [35] Momol E.A., Kistler H.C. 1992. Mitochondrial plasmids do not determine host range in crucifer-infecting strains of *Fusarium oxysporum*. *Plant Pathology* 41: 103–112.
- [36] Nelson P.E. 1991. History of *Fusarium* systematics. *Phytopathology*: 1045–1048.
- [37] Ploetz R.C., Correll J.C. 1988. Vegetative compatibility among races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Plant Dis.* 72: 325–328.
- [38] Puhalla J.E. 1984. Races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *apii* in California and their genetic interrelationships. *Can. J. Bot.* 62: 546–550.
- [39] Puhalla J.E. 1985. Classification of strains of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility. *Can. J. Bot.* 63: 179–183.
- [40] Rataj-Guranowska M. 1987. Identyfikacja ras *Fusarium oxysporum* Schl. f. sp. *lupini* Snyder et Hansen za pomocą metod immunochemicznych. Prace habil. Ossolineum, Wrocław.
- [41] Rataj-Guranowska M. 1992. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lupini* in Wielkopolska — genetic interrelationships. *Hod. Rośl. Aklim. Nas.* 37:133–140.
- [42] Rataj-Guranowska M., Łukaszewska N., Carder J.H., Barbara D.J. 1993. A rapid method for the selection of the vegetatively compatible nit mutants of two wilt pathogens. *Phytopath. Polon.* 5 (XVII): 83–89.
- [43] Rataj-Guranowska M., Walkowiak-Cagara I. 1994. Heterokaryons among three formae speciales of *Fusarium oxysporum* Schlecht. *Phytopath. Pol.* 7(XIX): 57–70.
- [44] Sands D.C., Ford E.J., Miller R.V., Sally B.K., McCarthy M.K., Anderson T.W., Weaver M.B., Morgan C.T., Pilgeram A.L., Darlington L.C. 1997. Characterization of a vascular wilt of *Erythroxylum coca* caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *erythroxyl*i forma specialis nova. *Plant Dis.* 81: 501–504.
- [45] Shurtleff M.C., Averre C.W. 1998. Glossary of Plant-Pathological Terms. APS Press. St Paul, Minnesota.
- [46] Snyder W.C., Hansen H.N. 1940. The species concept in *Fusarium*. *Amer. J. Bot.* 27: 64–67.
- [47] Walker J.C. 1965. Use of environmental factors in screening for disease resistance. *Ann. Rev. Phytopathol.* 3: 197–208.
- [48] Werner M., Rataj-Guranowska M. 1997. Cross-infectivity and vegetative compatibility of two formae speciales of *Fusarium oxysporum*. *Pol. Agr. Ann. Ser. E.* 26: 67–72.
- [49] Wollenweber H.W., Reinking O.A. 1935. Die Fusarien, ihre Beschreibung, Schadwirkung und Bekämpfung. Paul Parey, Berlin.
- [50] Woo S.L., Zoina A., Del Sorbo G., Lorito M., Nanni B., Scala F., Noviello C. 1996. Characterization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* by pathogenic races, VCGs, RFLPs, and RAPD. *Phytopathology* 86: 966–973.

Characterisation of special forms of *Fusarium oxysporum*

Key words: *Fusarium oxysporum*, formae speciales, pathogenicity, status

Summary

Snyder et Hansen in 1940 simplified nomenclature and taxonomy of the genus *Fusarium* by minimizing the significance of morphological variation. On the basis of host-specificity they established formae speciales and included them in a single species *F. oxysporum* Schlecht. emend. Snyder et Hansen. Up to date over 120 host-plants of nearly the same number of formae speciales have been recognized.

Formae speciales were differentiated by means of pathogenicity tests and additional methods: serological, biochemical, genetic, vegetative compatibility tests and molecular biology analysis, as RFLP and PCR.

Recently the differentiation of vegetative compatibility groups (VCGs) seems to be important in the characteristics of formae speciales. A systematic numbering of VCGs was proposed for standardization of the system used for categorizing genetic diversity in *F. oxysporum*. It might be the beginning of a new taxonomic system of *Fusarium oxysporum*.